Aus dem Institut für Biochemie und Landwirtschaftliche Technologie der Universität Breslau.

# Biochemische Untersuchungen über Vergärung von Aminosäuren.

Auszug aus einer Schrift
zur
Erlangung der philosophischen Doktorwürde
bei der
Hohen Philosophischen Fakultät der
Schles. Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Breslau

vorgelegt von

**Adolf Hackbarth.**

Promotion: 2. Juni 1923.

HOCHSCHULVERLAG BRESLAU
Schles. Buchdruckerei u. Verlag Karl Vater, Breslau 10, Matthiasstr. 12.

## Lebenslauf.

Ich, Adolf Hackbarth, bin am 5. September 1892 als Sohn des Magistratsbeamten Johannes Hackbarth und seiner Ehefrau Adelheid, geb. Berliner, in Ratibor, Provinz Schlesien, geboren. Ich besuchte die Volksschulen Brieg und Breslau, bestand Ostern 1913 an der Städtischen Oberrealschule I zu Breslau die Reifeprüfung und studierte bis zu Kriegsausbruch an der Schles. Friedrich-Wilhelms-Universität zu Breslau Mathematik und Naturwissenschaften. Von August 1914 bis Ende 1918 war ich im Heeresdienst, nahm an den Kämpfen am Toten Mann, an der Somme und in Flandern teil, wo ich verwundet wurde. Nach dem Kriege widmete ich mich dem Studium der Chemie, bestand Februar 1920 das anorganische Verbandsexamen, Juli 1921 das organische. Seit dem Wintersemester 1921/22 bin ich als Hilfsassistent am Institut für Biochemie und Landw. Technologie der Universität Breslau tätig.

Referent: Professor Dr. F. Ehrlich.

Termin der mündlichen Prüfung: 9. Mai 1923.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

---

E. Fischers klassische Untersuchungen lehren uns, daß das Molekül der Eiweißkörper durch eine säureamidartige Verknüpfung seiner Grundstoffe, der Aminosäuren, entstanden zu denken ist. Für die Chemie der Proteine spielen daher diese Bausteine eine fundamentale Rolle, so daß es für den Physiologen ebenso wie für den Chemiker von größter Bedeutung ist, das Schicksal dieser Körper des Eiweißkomplexes im Stoffwechsel der Organismen näher zu verfolgen. Zum Studium hierfür eignen sich besonders bestimmte Mikroorganismen, die die Eiweißkörper durch gewisse Fermente in Aminosäuren zerlegen und diese dann weiter aufspalten.

Neuartige Abbauprozesse ergaben später die Forschungen F. Ehrlichs [Ber. 40. 1047. (1907); 44. 139. (1911); 45. 883. (1912)] über den Eiweißumsatz bei Hefen und Schimmelpilzen, so daß es wertvoll erschien, diese Arbeiten weiter zu verfolgen, um ein klares Bild vom Stoffwechsel der Aminosäuren im Leben der Mikroorganismen zu erlangen.

Gewisses Interesse erweckte zunächst die Frage, inwieweit Hefen und Schimmelpilzrassen der verschiedensten Art aus Aminosäuren Oxysäuren oder Alkohole produzieren, und welche Faktoren den Verlauf dieser biochemischen Reaktionen beeinflussen können. Mittel und Wege sollten gebahnt werden, den Umsatz der Aminosäuren im Stoffwechsel der Mikroorganismen besonders zu begünstigen und dabei die Menge der theoretisch und praktisch gleichwichtigen Umsatzprodukte zu steigern. Diese Frage war besonders wichtig mit Rücksicht auf die Erhöhung der Fuselölausbeuten im Gärbetrieb der Brennereien.

Was den Mechanismus der Bildung von Oxysäuren aus Aminosäuren mit Hilfe von Schimmelpilzen anbetrifft, so zeigten sich sehr beträchtliche Unterschiede in der Art und Weise, wie z. B. der sehr verbreitete Schimmelpilz Oidium lactis Aminosäuren mit aromatischer oder heterocyklischer Gruppe im Gegensatz zu solchen aliphatischen Charakters assimiliert. Während nach F. Ehrlich und K. A. Jacobsen [„Über die Umwandlung von Aminosäuren in Oxysäuren durch Schimmelpilze“. Ber. 44. 888. (1911)] Aminosäuren mit einer aromatischen oder heterocyklischen Gruppe die zugehörigen Oxysäuren lieferten, konnte bei der Assimilation von Aminosäuren mit aliphatischem Charakter wie Leucin, Glutaminsäure und

Asparaginsäure durch Oidium lactis keine entsprechend konstituierten Oxysäuren isoliert werden. Vermutlich haben die anfangs aus den letztgenannten Aminosäuren hervorgegangenen Oxysäuren einen totalen Abbau durch den Schimmelpilz erfahren.

Da weitere Untersuchungen nach F. Ehrlich [„Über die Vergärung des Tyrosins zu p-Oxyphenyläthylalkohol (Tyrosol)". Ber. 44. 139. (1911)] über den Eiweißstoffwechselprozeß speziell bei der Hefe ergeben hatten, daß die Bildung von Tyrosol nicht allein auf untergärige und obergärige Hefen beschränkt ist, sondern daß auch die verschiedensten Hefearten diesen Alkohol produzieren, war es zunächst wichtig zu untersuchen, ob auch andere der Hefe mehr oder weniger verwandte Organismen zur gleichen Reaktion beim Abbau des Tyrosins befähigt sind. Ich habe daher eine Reihe von Mikroorganismen der Sammlung des Institutes für Biochemie und Landw. Technologie der Universität Breslau auf Tyrosin-Zuckerlösungen gezüchtet und ihr Vermögen zur Tyrosolbildung näher erforscht. Als Organismen kamen dabei zur Anwendung: Hefen einer Melassebrennerei, Mimbobierhefe, Hefe aus Kefir, ferner den Hefen verwandte Arten wie Zygosaccharomyces Barker, Pichia membranefaciens und Schimmelpilze wie Tamnidium elegans und Monilia candida. Als Untersuchungsmaterial wurde in allen Fällen dl-Tyrosin gewählt, um gleichzeitig auch Beobachtungen zu machen, welche von den Stereoisomeren des Tyrosins die einzelnen Pilze bei ihrem Wachstum bevorzugen. Ich kam so zunächst zu dem Ergebnis, daß Tyrosol ein normales Eiweißstoffwechselprodukt der Mikroorganismen darstellt. Weiterhin zeigte sich bei Aufarbeitung der Nährlösungen, daß fast immer ein Teil des angewandten dl-Tyrosins unverbraucht zurückblieb. Die polarimetrische Untersuchung dieses nicht angegriffenen Tyrosins ergab nur eine ganz minimale Drehung. Der Pilz hatte demnach zum Aufbau seines Körpereiweiß beide Komponenten der Racemverbindung wahllos abgebaut. Das gerade Gegenteil ergaben solche Versuche, bei denen die verschiedensten Mikroorganismen, speziell obergärige Hefen Rasse XII, auf Tyrosin-Zuckerlösungen unter Beigabe der üblichen Mineralsalze und bei Gegenwart von geringen Mengen gewisser Substrate wie Malzauszug und Hefeautolysat zur Züchtung kamen. Es trat hierbei ein lebhafterer Stoffwechselumsatz ein, der durch die vermehrte Tyrosolmenge und durch die gesteigerte Ausbeute an Myceltrockensubstanz erkannt wurde. Das nicht verbrauchte Tyrosin ergab deutliche Rechtsdrehung mit dem vollen Wert für d-Tyrosin. Dieses Resultat widerlegt die Hypothese Tsudjis [Act. Schol. Med. Univ. Jmp. Kioto. Vol. I. Fasc. IV. p. 439. (1917)], der den Satz aufstellt, daß das Enzym der Hefe und die Tyrosinase die Eigenschaft besitzen, dl-Tyrosin symmetrisch abzubauen, während Enzyme anderer Organismen dagegen die Substanz asymmetrisch zerlegen. Man kam so zu der Erkenntnis, daß in der Bierwürze und in dem Hefeautolysat besonders wirksame Stoffe vorhanden sind, die stimulierend auf das Wachstum einwirken und in spezifischer Weise richtend den Abbau des Racemkörpers beeinflussen. Weitere sehr eingehende Untersuchungen sollten zeigen, daß es sich hierbei um nur kleine Mengen handelt, die solche überraschenden Wirkungen auslösen. Durch Ausschütteln mit 96% Alkohol gelang es die für die asymmetrische Spaltung wichtigen Stoffe des Malzauszuges und des Hefeautolysates in Lösung zu bringen. Die in

Alkohol unlöslichen Fraktionen der Substrate erwiesen sich bei näherer Untersuchung als unwirksam, da in ihrer Gegenwart dl-Tyrosin nur symmetrisch gespalten wurde.

Nachdem es so gelungen war, durch Zusatz gewisser Substrate die Ausbeute an Tyrosol bei der Vergärung von Tyrosin zu steigern, war es besonders für die Technik der Brennereien von Bedeutung die Ausbeuten an Fuselöl bei der alkoholischen Gärung zu erhöhen. Im Anschluß daran tauchte die Frage auf, welchen Einfluß einzelne Faktoren der Maische auf die Bildung von Fuselöl ausüben können, und ob die Möglichkeit besteht, durch Zusatz von Leucin aus hydrolysiertem Bluteiweiß die Ausbeuten an Fuselöl wesentlich zu verbessern. Aus meinen Untersuchungen ging deutlich hervor, daß im Gegensatz zu den Angaben von S. Fränkel und J. Fischl [Verfahren zur Steigerung der Ausbeute an Fuselöl bei der Gärung. D. R. P. 303254. Kl. 6b.] eine Steigerung der Fuselölausbeute durch Zusatz von Bluteiweiß oder seinen Hydrolysaten nicht möglich ist, im Gegenteil meistens eine Herabminderung der Fuselölmenge in den vergorenen Maischen erfolgt. Wie auch F. Ehrlich [Ber. 40. 1035. (1907)] in seinen früheren Arbeiten bewiesen hat, beobachtet man, daß bei der Hefegärung des Zuckers durch Zusatz von Leucin der Fuselölgehalt des Spiritus bis auf das 7-fache der gewöhnlich bei der Vergärung von Zucker und Hefe für sich erhaltenen Menge gesteigert wird. Der Grad der Fuselölausbeute hängt aber von der Menge der vorhandenen Leucine und von der Menge und Natur der sonst noch anwesenden Stickstoffkörper ab. Die höchsten Werte an Amylalkohol erlangt man, wenn man Leucin mit reinem Zucker in Abwesenheit anderer Stickstoffkörper vergärt. Sind dagegen wie in allen natürlichen Maischen noch andere Stickstoffkörper zugegen, dann bleibt ein Teil der Leucine unberührt. Um so mehr werden natürlich die mannigfachen Eiweißstoffe des Blutes auf den Mechanismus der Fuselölbildung hemmend einwirken. Selbst bei Zusatz von reinem Leucin drücken die Nebenprodukte der Melasse und des Rohzuckers, die man als Kohlehydratmaterial in den technischen Maischen benutzt, die Ausbeuten an Fuselöl bei der Hefegärung stark zurück. Weiterhin ist der Beweis erbracht worden, daß auch durch langsames Wachstum und Aufzucht von Hefe auf Zucker-Leucin-Lösungen keine größere Steigerung der Ausbeuten an Fuselöl erreicht wird als bei Vergärung mit großen Mengen fertiggebildeter Hefe. Man kam zu dem Endergebnis, daß je nach Art der kohlehydrathaltigen Maische nur gewisse Maximalwerte an Fuselöl sich bei der Gärung ergeben, über die hinaus kein weiteres Ansteigen erfolgt. Bei den hier durchgeführten Versuchen wurden im allgemeinen Fuselölausbeuten erhalten, die zwischen 0,2—2,7%, bezogen auf gleichzeitig entstandenen absoluten Alkohol, schwankten.

Zum Schluß erlaube ich mir noch, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. F. Ehrlich, meinen aufrichtigsten Dank für die reiche Anregung, Belehrung und Förderung auszusprechen, die er mir während meines Studiums, besonders aber während dieser letzten wissenschaftlichen Untersuchungen stets in hohem Maße gewährt hat.

---

Gedruckt mit Genehmigung der Hohen Philosophischen Fakultät der Schlesischen Friedrich-Wilhelms-Universität.